



**UJI TOKSISITAS AKUT YANG DIUKUR DENGAN
PENENTUAN LD₅₀ EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella
asiatica* (L.) Urban) TERHADAP MENCIT BALB/C**

Laporan Akhir Karya Tulis Ilmiah

Disusun untuk memenuhi tugas dan memenuhi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

Feni Sulastry

NIM : G2A 005 073

**FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG**

2009

LEMBAR PENGESAHAN

LAPORAN AKHIR KARYA TULIS ILMIAH

UJI TOKSISITAS AKUT YANG DIUKUR DENGAN PENENTUAN LD₅₀ EKSTRAK DAUN PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urban) TERHADAP MENCIT BALB/C

Yang disusun oleh :

Feni Sulastry

NIM : G2A 005 073

Telah diseminarkan di hadapan tim penguji Karya Tulis Ilmiah Fakultas
Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang pada tanggal 24 Agustus 2009 dan
telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran yang diberikan

Tim Penguji

Ketua Penguji

Dr. Dra Henna Rya Sunoko, MES, Apt

NIP : 320 002 500

Penguji

Pembimbing

Drs.Suhardjono, M.Si, Apt

NIP : 130 937 451

dr. Budhi Surastris S. M.Si.Med

NIP : 130 810 114

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan.....	ii
Daftar Isi.....	iii
Daftar Lampiran.....	vi
Daftar tabel.....	vii
Abstrak Bahasa Indonesia.....	viii
Abstrak Bahasa Inggris.....	ix

BAB 1 PENDAHULUAN

1. 1. Latar Belakang.....	1
1. 2. Perumusan Masalah.....	2
1. 3. Tujuan Penelitian.....	2
1. 3. 1. Tujuan umum.....	2
1. 3. 2. Tujuan khusus.....	2
1. 4. Manfaat Penelitian.....	3

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. Pegagan	4
2.1.1. Karakteristik umum.....	4
2.1.2.Kandungan dalam pegagan.....	5
2. 1. 3. Khasiat	5
2.2.Uji toksisitas akut.....	6
2. 2. 1. Pengertian	6

2. 2. 2. Tujuan	6
2. 2. 3. Hewan coba	7
2. 2. 4. Perlakuan hewan coba.....	7
2. 2. 5. Cara pemberian senyawa.....	8
2. 2. 6. Pengamatan	9
2. 2. 7. Analisa dan evaluasi hasil.....	9
2. 3. Lethal dose 50.....	10
2. 4. Kerangka Teori.....	13
2. 5. Kerangka Konsep.....	14
2. 6. Hipotesis Penelitian.....	14

BAB 3 METODE PENELITIAN

3. 1. Ruang Lingkup Penelitian.....	15
3. 2. Jenis Penelitian.....	15
3. 3. Populasi dan Sampel	15
3. 3. 1. Populasi	15
3. 3. 2. Sampel	16
3. 4. Variabel Penelitian.....	16
3. 4. 1. Variabel bebas.....	16
3. 4. 2. Variabel tergantung.....	17
3. 5. Bahan dan Alat penelitian.....	17
3. 5. 1. Bahan penelitian	17
3. 5. 2. Alat penelitian.....	17
3. 6. Data yang dikumpulkan.....	17

3. 7. Cara Kerja.....	18
3. 7. 1. Aklimatisasi	18
3. 7. 2. Randomisasi	18
3. 8. Alur penelitian.....	20
3. 9. Prosedur pengamatan.....	21
3.10. Definisi operasional	21
3. 11. analisa data	21
BAB 4	HASIL PENELITIAN
4. 1. Jumlah Hewan Coba Yang Mati.....	22
4. 2. Gejala Klinis Ketoksikan.....	23
BAB 5	PEMBAHASAN
5. 1. Pembahasan.....	24
BAB 6	KESIMPULAN DAN SARAN
6. 1. Kesimpulan.....	26
6. 2. Saran.....	26
DAFTAR PUSTAKA.....	27

DAFTAR LAMPIRAN

- LAMPIRAN 1 : DAFTAR PEMERIKSAAN FISIK DAN PENGAMATAN HEWAN DALAM UJI TOKSISITAS (LOOMIS 1978)
- LAMPIRAN 2 : RASIO LUAS PERMUKAAN TUBUH PADA BERBAGAI HEWAN DAN MANUSIA
- LAMPIRAN 3 : VOLUME MAKSIMAL LARUTAN SEDIAAN UJI YANG DAPAT DIBERIKAN PADA BEBERAPA HEWAN UJI (RITSCHER,1974)
- LAMPIRAN 4 : GEJALA KLINIS KETOKSIKAN EKSTRAK PEGAGAN (*Centella asiatica* (L) Urban)
- LAMPIRAN 5 : PENENTUAN DOSIS TIAP MENCIT

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Jumlah mencit Balb/c yang mati pada pemberian ekstrak pegagan dosis tunggal setelah 24 jam.....	22
Tabel 2. Kesimpulan hasil pengamatan gejala klinis ketoksikan setelah 24 jam pemberian ekstrak pegagan dosis tunggal.....	23

Uji Toksisitas Akut yang Diukur dengan Penentuan LD₅₀ Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) Terhadap Mencit Balb/c

Feni Sulastry¹⁾, Budhi Surastri S²⁾

ABSTRAK

Latar Belakang: Ekstrak *Centella asiatica* (L.) Urban diketahui memiliki efek sedatif-hipnotik, memperbaiki akson pada kerusakan saraf dan meningkatkan faktor pertahanan mukosa gaster. Uji toksisitas akut LD₅₀ diperlukan untuk menguji keamanan penggunaannya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksik dari dosis tunggal ekstrak ini dalam 24 jam terhadap mencit balb/c.

Metode: Penelitian eksperimental ini menggunakan *Post Test Only Control Group Design*. Tiga puluh ekor mencit Balb/c dibagi menjadi 1 kelompok kontrol (K) dan 4 kelompok perlakuan (P). Kelompok K hanya dosis tunggal aquadest per-oral. Kelompok P1, P2, P3, dan P4 diberi dosis tunggal ekstrak *Centella asiatica* (L.) Urban dengan dosis bertingkat 5 mg, 50 mg, 500 mg, dan 2000 mg per kgBB. Setelah 24 jam dinilai gejala klinis ketoksikan pada tiap mencit dan dihitung jumlah mencit yang mati.

Hasil: Tidak ada satupun kematian mencit Balb/c pada seluruh kelompok (K, P1, P2, P3 dan P4) sehingga berdasarkan kesepakatan para ahli, dosis maksimal yaitu pada dosis 2000 mg per kgBB ditetapkan sebagai LD₅₀ semu. Tidak ada gejala klinis ketoksikan signifikan yang tampak pada seluruh kelompok (K, P1, P2, P3 dan P4).

Simpulan: Pada dosis maksimal (2000 mg per kgBB) *Centella asiatica* (L.) Urban tidak terdapat kematian pada seluruh mencit Balb/c sehingga digolongkan pada kriteria “praktis tidak toksik”.

Kata Kunci: *Centella asiatica* (L.) Urban, toksisitas akut, LD₅₀

¹⁾Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

²⁾Staf Pengajar Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

The Acute Toxicity Test Using LD₅₀ Formulation of Gotu Kola (Centella asiatica (L.) Urban) leaves Extract on Balb/c Mice

Feni Sulastry¹⁾, Budhi Surastri S²⁾

ABSTRACT

Background: *Centella asiatica (L.) Urban* has been proven having sedative-hipnotic, regenerate axons on nerve damage and increase gastric mucosal defense factors by several researches. LD₅₀ acute toxicity test is important to determine the usage safeness of this extract. This research aimed to investigate the toxic effects of *Centella asiatica (L.) Urban* extract in single dose for 24 hours on balb/c mice.

Method: This experimental study applied post test only control group design. Thirty balb/c mice were divided into 1 control group (K) and 4 treatment groups (P). K was administrated by single dose of aquadest. P1, P2, P3, and P4 treated by single doses extract of *Centella asiatica (L.) Urban*: 5 mg; 50 mg; 500 mg; and 2000 mg per kgs of body weight. After 24 hours, all mice were assessed for the toxic clinical symptoms and the amount of death mice.

Result: There were no deaths in every groups of Balb/c mice (K, P1, P2, P3 and P4). Therefore, based on specialist's agreement, the maximum dose; 2000 mg per body weight; administrated the mice was considered as the apparent LD₅₀. Significant toxic clinical symptoms were not found in every group of mice (K, P1, P2, P3 and P4).

Conclusion: *Centella asiatica (L.) Urban* leaves extract is considered as the practically non toxic substance.

Key Words: *Centella asiatica (L.) Urban*, acute toxicity, LD₅₀

¹⁾ Student of Faculty of Medicine Diponegoro University, Semarang

²⁾ Staff on Pharmacology Department Faculty of Medicine Diponegoro University, Semarang

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Masyarakat telah mengenal secara luas dan turun – temurun penggunaan obat – obat tradisional. Salah satunya adalah Pegagan (*centella asiatica* (L.) Urban). Pegagan ini dimanfaatkan dalam bentuk bahan segar, kering maupun dalam bentuk ramuan atau jamu.¹

Efek pengobatan dari pegagan secara tradisional dan secara ilmiah sudah lama berkembang. Pegagan telah dikenal sebagai obat untuk revitalisasi tubuh dan pembuluh darah serta mampu memperkuat struktur jaringan tubuh. Pegagan dapat diberikan sebagai obat kepada penderita insomnia, penderita stress, dan penderita kelainan mental.²

Beberapa penelitian sudah pernah dilakukan untuk membuktikan efek sedatif-hipnotik ekstrak Pegagan. Di antaranya yang pernah diteliti oleh Anissatul Mubarakah dari Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, menunjukkan bahwa ekstrak Pegagan mempunyai efek sedatif.³ Selain itu, Pegagan juga dapat mempercepat perbaikan akson pada kerusakan saraf.⁴ Pegagan juga dapat meningkatkan faktor pertahanan gaster berupa peningkatan sekresi musin gaster dan produksi glikoprotein sel mukosa.⁵

Mengingat betapa luas dan seringnya pemakaian Pegagan ini sebagai obat, maka penggunaan tanaman ini harus melalui serangkaian uji, seperti uji khasiat, toksisitas dan uji klinik. Dengan dasar tersebut dan mempertimbangkan

potensinya yang cukup tinggi, maka penulis tertarik untuk melakukan uji toksisitas akut ekstrak pegagan untuk menetapkan potensi ketoksikan akut Pegagan.⁶

Uji toksisitas akut merupakan salah satu uji pra-klinik. Uji ini dilakukan untuk mengukur derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi dalam waktu singkat, yaitu 24 jam, setelah pemberiannya dalam dosis tunggal. Tolak ukur kuantitatif yang paling sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal atau toksik adalah dosis letal tengah (LD_{50}). Penelitian ini dilakukan secara in vivo, menggunakan hewan coba mencit Balb/c dengan paparan tunggal dosis bertingkat. Pengamatan meliputi jumlah hewan yang mati serta gejala klinis ketoksikan akut senyawa pada 24 jam pertama pemberian ekstrak Pegagan.

1.2 Rumusan Masalah

Berapakah LD_{50} ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) pada mencit Balb/c?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek toksisitas akut ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang diukur secara kuantitatif dengan LD_{50} .

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menentukan nilai dosis ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) yang mengakibatkan kematian 50% populasi mencit
2. Mengamati gejala – gejala klinis ketoksikan setelah pemberian ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) dalam 24 jam pertama

1.4 Manfaat Penelitian

1. Sebagai bahan informasi penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas akut pemberian ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) terhadap mencit Balb/c.
2. Sebagai dasar evaluasi keamanan perancangan klinik.
3. Sebagai pedoman untuk memperkirakan risiko penggunaan ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban) oleh atau pemajannya pada diri manusia.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pegagan

2.1.1 Karakteristik Umum

Pegagan termasuk kelas Ambelliferae atau Apiaceae. Tanaman ini memiliki nama latin *Centella asiatica* (L.) Urban atau *Hidrocotyle asiatica*. Pada beberapa daerah di Indonesia dikenal dengan nama daun kaki kuda, rumput kaki kuda, antanan gede, panegowang, kisu-kisu, pegaga, tapak kuda dan kuku kuda.⁷

Pegagan merupakan tanaman tahunan yang tumbuh menjalar dan tidak berbatang. Perkembangbiakannya menggunakan stolon. Panjang tanaman bisa mencapai 10-80 cm, bahkan lebih. Jumlah daun bisa 10 helai atau lebih. Panjang tangkai daun sekitar 50 mm. Daun berbentuk seperti kipas atau ginjal dengan diameter 1-7 cm dan tepinya bergerigi. Bentuk bunga seperti payung dan keluar dari ketiak daun. Biasanya tangkai bunga lebih pendek daripada tangkai daun. Buah pegagan berbentuk pipih dengan lebar sekitar 7 mm, berwarna kuning kecoklatan dan agak tebal.^{7,8}

Pegagan akan tumbuh dengan baik di daerah-daerah dengan ketinggian 500 meter dari permukaan air laut dan memiliki pH netral. Pertumbuhannya akan semakin maksimal jika daerah tersebut terbuka tetapi cukup terlindung dari sinar matahari secara langsung.⁷

2.1.2 Kandungan dalam Pegagan

Pegagan mengandung triterpenoid, fosfor, karotenoid, brahmosida, asam brahmat, asam sentelat, asam sentolat, saponin, tatin, resin, pektin, *hidrocotyline*, *vellarine asaticoside*, *thankunside*, *isothankunside*, *madecassoside*, *mesoinositol*, *centallose*, *mucilago*, garam K, Na, Ca, Fe, Mg, vitamin B, vitamin C, dan minyak atsiri.^{7,8}

2.1.3 Khasiat

Pegagan mempunyai rasa manis. Tanaman ini berkhasiat sebagai, penghenti perdarahan, diuretik ringan, anti rematik, anti toksik, pembersih darah, dan penenang atau sedatif.^{7,9} Selain itu, masyarakat juga memanfaatkan Pegagan untuk mengobati penyakit-penyakit kencing keruh akibat infeksi atau pada batu sistem saluran kemih, susah kencing, demam, darah tinggi, wasir, pembengkakan hati, campak, bisul, mata merah, bengkak, batuk darah, muntah darah, mimisan, batuk kering, dan penambah nafsu makan.^{10,11}

Dosis tinggi dari glikosida saponin mempunyai manfaat meredakan rasa nyeri. Saponin yang terkandung dalam Pegagan ini mempunyai manfaat mempengaruhi kolagen misalnya dalam menghambat produksi jaringan bekas luka yang berlebihan.¹²

Asiaticoside Pegagan berfungsi meningkatkan perbaikan dan penguatan sel-sel kulit, stimulasi pertumbuhan kuku, rambut, dan jaringan ikat.¹³ Kandungan triterpenoid Pegagan dapat merevitalisasi pembuluh darah sehingga peredaran darah ke otak menjadi lancar, memberikan efek menenangkan dan meningkatkan

fungsi mental menjadi yang lebih baik.¹² Penelitian efek sedatif Pegagan pernah dilakukan oleh Anissatul Mubarakah dan kawan-kawan dari Universitas Muhammadiyah Surakarta. Dengan menggunakan ekstrak metanol dosis bertingkat yang diteliti pada mencit putih jantan ditemukan bahwa pada dosis 0,8 gram/kg BB ekstrak pegagan sudah menunjukkan efek sedatif.³

2.2 UJI TOKSISITAS AKUT

2.2.1 Pengertian

Ketoksikan akut adalah derajat efek toksik suatu senyawa yang terjadi secara singkat (24 jam) setelah pemberian dalam dosis tunggal. Jadi yang dimaksud dengan uji toksisitas akut adalah uji yang dilakukan untuk mengukur derajat efek suatu senyawa yang diberikan pada hewan coba tertentu, dan pengamatannya dilakukan pada 24 jam pertama setelah perlakuan dan dilakukan dalam satu kesempatan saja^{6,14}

Data kuantitatif uji toksisitas akut dapat diperoleh melalui 2 cara, yaitu dosis letal tengah (LD_{50}) dan dosis toksik tengah (TD_{50}). Namun yang paling sering digunakan adalah dengan metode LD_{50} .

2.2.2 Tujuan

Tujuan dilakukannya uji toksisitas akut adalah untuk menentukan potensi ketoksikan akut dari suatu senyawa dan untuk menentukan gejala yang timbul pada hewan coba^{6,14}. Data yang dikumpulkan pada uji

toksisitas akut ini adalah data kuantitatif yang berupa kisaran dosis letal atau toksik, dan data kualitatif yang berupa gejala klinis.

2.2.3 Hewan Coba

Pada dasarnya tidak ada satu hewan pun yang sempurna untuk uji toksisitas akut yang nantinya akan digunakan oleh manusia. Walaupun tidak ada aturan tetap yang mengatur pemilihan spesies hewan coba,¹⁴ yang lazim digunakan pada uji toksisitas akut adalah tikus, mencit, marmut, kelinci, babi, anjing, monyet. Pada awalnya, pertimbangan dalam memilih hewan coba hanya berdasarkan avaibilitas, harga, dan kemudahan dalam perawatan. Namun, seiring perkembangan zaman tipe metabolisme, farmakokinetik, dan perbandingan catatan atau sejarah avaibilitas juga ikut dipertimbangkan. Hewan yang paling sering dipakai adalah mencit dengan mempertimbangkan faktor ukuran, kemudahan perawatan, harga, dan hasil yang cukup konsisten dan relevan.¹⁵

2.2.4 Perlakuan Hewan Coba

Hewan coba dikarantina terlebih dahulu selama 7 – 14 hari. pengkarantinaan ini bertujuan untuk menghilangkan stres akibat transportasi. Serta untuk mengkondisikan hewan dengan suasana lab. Pada waktu pengkarantinaan, temperatur dan kelembaban harus diperhatikan. Temperatur yang cocok untuk karantina adalah temperatur kamar serta kelembapan yang sesuai antara 40 – 60%.

Pemberian senyawa pada hewan coba (mencit) memiliki dosis maksimum yaitu 5000mg/KgBB¹⁵ dan juga mempunyai batas maksimum volume cairan yang boleh diberikan pada hewan uji.⁶ Dosis yang diberikan dapat diperhitungkan dengan beberapa cara, yaitu:

1. Berdasarkan ED₅₀ senyawa uji dari hasil uji farmakologi dengan hewan uji dengan jalur pemberian yang sama.
2. Berdasarkan harga LD₅₀ senyawa uji pada hewan uji yang sama (5 – 10% LD₅₀ intra vena).
3. Berdasarkan kelipatan dosis yang disarankan untuk digunakan pada manusia.
4. Berdasarkan tabel konversi perhitungan dosis anta-jenis hewan, berdasarkan nisbah (ratio luas permukaan badan mereka).⁶

2.2.5 Cara Pemberian Senyawa

Lazimnya senyawa diberikan pada hewan coba adalah dengan cara per oral, namun cara yang paling tepat adalah dengan mempertimbangkan kemungkinan cara pemberian senyawa tersebut seperti pada manusia. Kebanyakan orang lebih memilih memakai obat dari kulit atau melalui inhalasi karena kemudahannya. Tetapi uji toksisitas melalui cara tersebut sulit dilakukan karena :

1. Uji toksisitas akut melalui inhalasi membutuhkan alat khusus, agar perhitungan induksi obat sesuai standar, sehingga butuh biaya lebih banyak serta menggunakan metode yang lebih rumit.

2. Uji toksisitas akut melalui kulit membutuhkan biaya yang lebih besar dibandingkan dengan pemberian per oral.
3. Sedikit sekali hewan yang memiliki struktur kulit yang sama dengan manusia, karena manusia mempunyai epidermis (stratum corneum) yang lebih tebal dari hewan coba pada umumnya. Hewan yang mempunyai tingkat kesamaan paling tinggi dalam struktur kulit dengan manusia adalah babi.¹⁵

2.2.6 Pengamatan

Pengamatan dilakukan 24 jam pertama sejak diberikan perlakuan, dan 7 – 14 hari pada kasus tertentu. Sebaiknya mengamati hewan coba sebelum diberi perlakuan. Hal ini bertujuan untuk mengetahui perubahan gejala yang terjadi setelah diberi perlakuan dengan membandingkan gejala atau perilaku sebelum perlakuan.

Kriteria Pengamatan meliputi:

1. Pengamatan terhadap gejala – gejala klinis.
2. Perubahan berat badan.
3. Jumlah hewan yang mati pada masing – masing kelompok uji.
4. Histopatologi organ.⁶

2.2.7 Analisa dan Evaluasi Hasil

Data gejala – gejala klinis yang didapat dari fungsi vital, dapat dipakai sebagai pengevaluasi mekanisme penyebab kematian secara

kualitatif. Data hasil pemeriksaan histopatologi digunakan untuk mengevaluasi spektrum efek toksik. Data jumlah hewan yang mati digunakan untuk menentukan nilai LD_{50} .

Jika pada batas dosis maksimum tercapai, namun belum diketahui LD_{50} -nya, maka hasil yang didapat tertulis “ LD_{50} lebih dari 5000mg/KgBB”.¹⁵ Dan jika sampai pada batas volume maksimum yang boleh diberikan pada hewan uji, namun belum menimbulkan kematian, maka dosis tertinggi tersebut dinyatakan sebagai LD_{50} semu (LD_0).⁶

2.3 LETHAL DOSE 50

Lethal Dose 50 adalah suatu besaran yang diturunkan secara statistik, guna menyatakan dosis tunggal sesuatu senyawa yang diperkirakan dapat mematikan atau menimbulkan efek toksik yang berarti pada 50% hewan coba setelah perlakuan^{6,16}. LD_{50} merupakan tolak ukur kuantitatif yang sering digunakan untuk menyatakan kisaran dosis letal.

Beberapa pendapat menyatakan tidak setuju, bahwa LD_{50} masih dapat digunakan untuk uji toksisitas akut. Namun demikian, ada juga beberapa kalangan yang masih setuju, bahwa LD_{50} masih dapat digunakan untuk uji toksisitas akut dengan pertimbangan antara lain :

- Jika dilakukan dengan baik, uji toksisitas akut tidak hanya mengukur LD_{50} , tetapi juga memberikan informasi tentang waktu kematian,

penyebab kematian, gejala – gejala sebelum kematian, organ yang terkena efek, dan kemampuan pemulihan dari efek nonlethal.

- Hasil uji ini dapat digunakan untuk pertimbangan pemilihan *design* penelitian subakut.
- Hasil uji ini dapat langsung digunakan sebagai perkiraan risiko suatu senyawa terhadap konsumen atau pasien.
- Uji LD₅₀ tidak membutuhkan waktu yang lama.¹⁴

Hasil dari uji LD₅₀ yang harus dilaporkan selain jumlah hewan yang mati, juga harus disebutkan durasi pengamatan. Bila pengamatan dilakukan dalam 24 jam setelah perlakuan, maka hasilnya tertulis “LD₅₀ 24 jam”. Namun seiring perkembangan, hal ini sudah tidak diperhatikan lagi, karena pada umumnya tes LD₅₀ dilakukan dalam 24 jam pertama sehingga penulisan hasil tes “LD₅₀” saja sudah cukup untuk mewakili tes LD₅₀ yang diamati dalam 24 jam.

Bila dibutuhkan, tes ini dapat dilakukan lebih dari 14 hari. Contohnya, pada *tricrosyl phosphat*, akan memberikan pengaruh secara neurogik pada hari 10 – 14, sehingga bila diamati pada 24 jam pertama tidak akan menemukan hasil yang berarti. Dan apabila demikian maka penulisan hasil harus disertai dengan durasi pengamatan.¹⁴

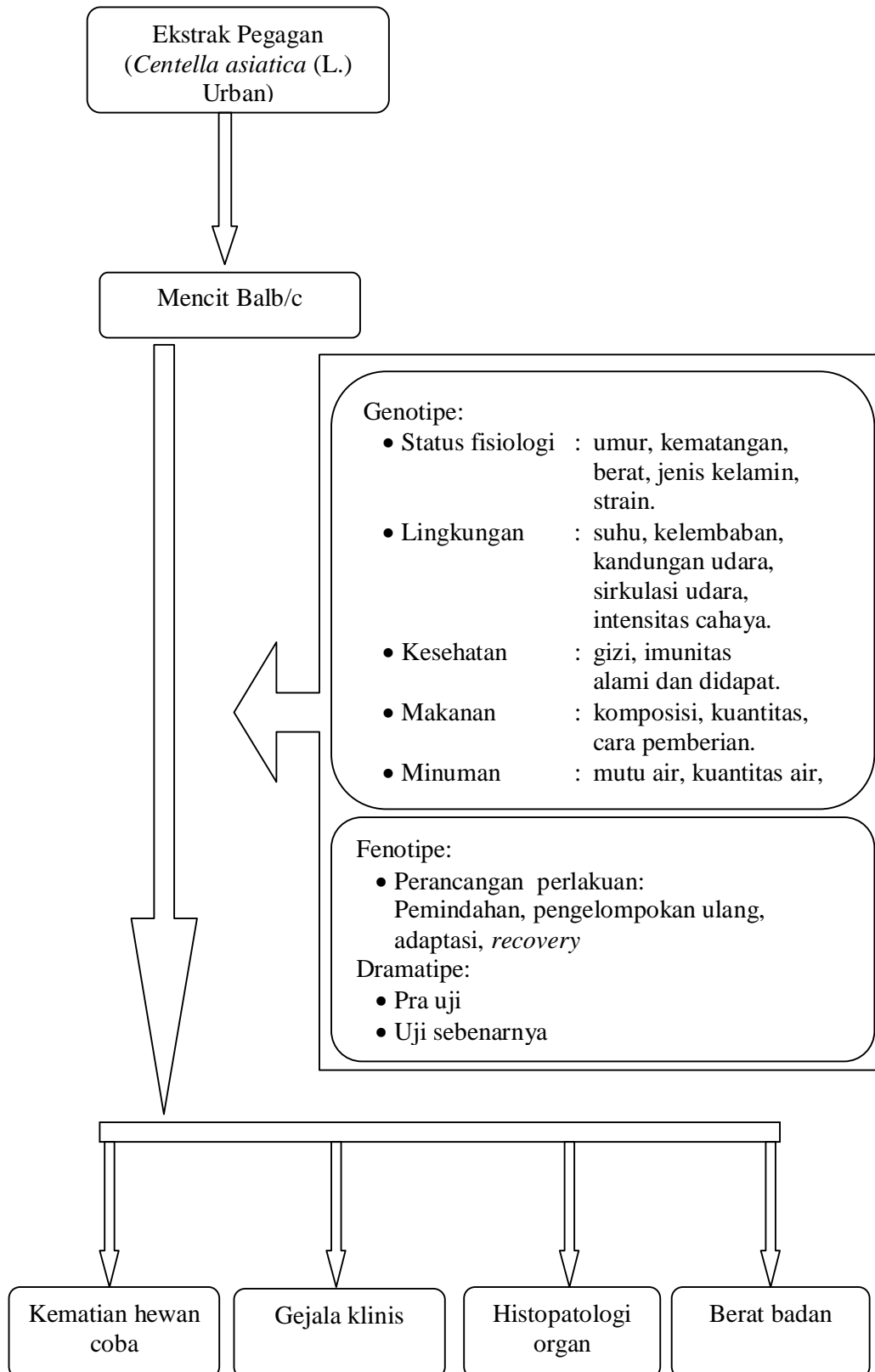
Pada umumnya, semakin kecil nilai LD₅₀, semakin toksik senyawa tersebut. Demikian juga sebaliknya, semakin besar nilai LD₅₀, semakin rendah toksisitasnya. Potensi ketoksikan akut senyawa pada hewan coba dibagi menjadi beberapa kelas, adalah sebagai berikut :

No.	Kelas	LD ₅₀ (mg/KgBB)
1	Luar biasa toksik	1 atau kurang
2	Sangat toksik	1 – 50
3	Cukup toksik	50 – 500
4	Sedikit toksik	500 – 5000
5	Praktis tidak toksik	5000 – 15000
6	Relatif kurang berbahaya	lebih dari 15000

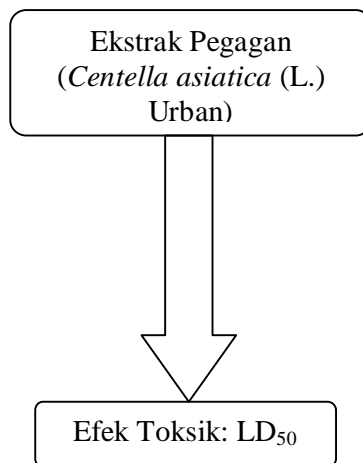
Loomis (1978)¹⁴

Beberapa hal yang dapat mempengaruhi nilai LD₅₀ antara lain spesies, strain, jenis kelamin, umur, berat badan, gender, kesehatan nutrisi, dan isi perut hewan coba. Teknis pemberian juga mempengaruhi hasil, yaitu meliputi waktu pemberian, suhu lingkungan, kelembaban dan sirkulasi udara. Selain itu, kesalahan manusia juga dapat mempengaruhi hasil ini. Oleh karena itu, sebelum melakukan penelitian, kita harus memperhatikan faktor – faktor yang mempengaruhi hasil ini.¹⁶

2.4 KERANGKA TEORI



2.5 Kerangka Konsep



2.6 Hipotesis

Ekstrak Pegagan memiliki daya ketoksikan akut “Praktis Tidak Tosik” menggunakan kriteria Loomis (1978).